

Title	Necdin-related MAGE Proteins Differentially Interact with the E2F1 Transcription Factor and the p75 Neurotrophin Receptor
Author(s)	桑子, 賢一郎
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45508">https://hdl.handle.net/11094/45508</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照</a> ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	桑 子 賢 一 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 9 2 5 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 17 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学 位 論 文 名	Necdin-related MAGE Proteins Differentially Interact with the E2F1 Transcription Factor and the p75 Neurotrophin Receptor (Necdin 関連 MAGE 蛋白質は差別的に転写因子 E2F1 および p75 神経栄養因子受容体と相互作用する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉川 和明 (副査) 教 授 岡田 雅人 教 授 三木 直正

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [目的]

Necdin は分裂終了ニューロンに高発現し、強い細胞増殖抑制能を持ち、細胞周期制御に関わる転写因子 E2F1 と結合して転写活性を抑制することなどからニューロンの分化に伴う分裂終了機構に関与するものと考えられている。一方、ヒト Necdin 遺伝子 (NDN) は、ゲノムインプリンティングが関与する神経発達異常症である Prader-Willi 症候群 (PWS) の欠損領域 (15 番染色体) に存在しており、原因遺伝子の最も有力な候補とされている。Necdin は、その相同性から MAGE ファミリーグループに属する。最近、NDN の近傍に MAGE ファミリー遺伝子の MAGE-L2 が、また、PWS 欠損領域に近接する自閉症関連領域内に MAGE-G1 が存在することが報告された。MAGE ファミリー遺伝子のほとんどは X 染色体上に存在するが、これら NDN、MAGE-L2、MAGE-G1 の 3 遺伝子だけが 15 番染色体上の脳疾患の原因領域に存在している。特に、NDN と同様にゲノムインプリンティングを受けている MAGE-L2 は、PWS 発症機構に関与することが推定されている。しかし、これら 2 種の MAGE ファミリー遺伝子は Necdin と一次構造が類似しているが、その生理機能については全く不明である。そこで、本研究ではこれらの MAGE ファミリー蛋白質の生理機能を明らかにするために、既知の Necdin 結合蛋白質を中心に解析を行った。

#### [方法ならびに成績]

神経分化させた P19 胚性ガン細胞由来の cDNA ライブラリーからクローン化した MAGE-G1 cDNA は、279 アミノ酸残基からなる蛋白質をコードしていた。ノーザンブロット法により成体マウスでの mRNA の発現を調べたところ、Necdin は脳特異的に、また MAGE-G1 は脳、精巣、卵巣で高発現していた。一方、MAGE-L2 は、調べたすべての組織で発現が検出できなかった。Necdin と MAGE-G1 は、Saos-2 細胞を用いたコロニー形成法では強い細胞増殖抑制作用を示し、293A 細胞を用いた BrdU の取り込み実験では陽性細胞を有意に減少させた。また、共免疫沈降法および in vitro pull down 法を行ったところ、MAGE-G1 は Necdin と同様に E2F1 の転写活性化領域に結合した。さらに、MAGE-G1 は Necdin と同様に E2F1 によるマウス c-myc プロモーターの活性化を強く抑制し、E2F1 による神経芽細胞種 N1E-115 細胞のアポトーシスも抑制した。一方、Necdin と MAGE-G1 は神経栄養因子受容体 p75 (p75NTR) と異なる細胞内領域で結合することが共免疫沈降法および in vitro pull down 法によって明らかになった。

た。Necdin や MAGE-G1 の示す E2F1 誘発性アポトーシス抑制作用は、p75NTR を共発現させると減少し、その効果は神経成長因子 NGF によって増強された。N1E-115 細胞において、Necdin と MAGE-G1 は、E2F1 や p75NTR との共発現により、それぞれ、核と細胞膜周辺細胞質に多く局在した。これに対して、MAGE-L2 は E2F1 や p75NTR との結合は認められず、E2F1 の転写抑制やアポトーシス抑制作用も示さなかった。

[総括]

本研究から、NDN と同じ 15 番染色体上に存在する MAGE-G1 は、一次構造上だけでなく機能的にも Necdin と類似した蛋白質であることが示された。Necdin と MAGE-G1 は共にニューロンの増殖抑制や生存のシグナル伝達に関与する E2F1 や p75NTR と相互作用することから、細胞内で局在を変えて機能し、ニューロンの分化・生存維持機構に関与する可能性が示唆された。一方、MAGE-L2 はこれまで一次構造の相同性から Necdin と同様に PWS 発症機構に関与すると予想されてきたが、Necdin との機能的類似性が低いことから、PWS 発症機構への関与も少ないことが示唆される。MAGE-G1 はゲノムインプリンティングを受けていないが、Necdin と類似した機能を持つことから、Necdin の機能を MAGE-G1 が補償している可能性も考えられる。このことが、Necdin 単独のノックアウトマウスは系統によって症状が異なることや、PWS の主症状がみられないことの一因かもしれない。ヒト 15 番染色体近位部は多くの精神疾患に関わる遺伝子が存在するとされる領域であるが、2つの MAGE ファミリー遺伝子がニューロンの増殖抑制や生存機構に関与している可能性があることから、少なくとも PWS や自閉症においては、これらの Necdin/MAGE ファミリー遺伝子の欠失あるいは変異によるニューロンの分化異常が原因である可能性も考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

MAGE ファミリーに属し、Necdin と類似したアミノ酸配列を有する MAGE-L2 と MAGE-G1 をコードする遺伝子は、プラダー・ウィリー症候群などのゲノムインプリンティングに関連した精神神経疾患の責任領域として知られるヒト染色体 15q11-14 領域に存在している。本論文は、MAGE-L2 と MAGE-G1 の性質を Necdin と比較することによって検討し、ニューロンにおける機能を明らかにしたものである。その結果、Necdin と同様に細胞増殖抑制作用やアポトーシス抑制作用を示すのは、プラダー・ウィリー症候群への関与が予想されていた MAGE-L2 ではなく、MAGE-G1 であることが明らかになった。さらに、Necdin や MAGE-G1 は、転写因子 E2F1 と神経栄養因子受容体 p75 の両者に結合して、ニューロンにおけるアポトーシスシグナル伝達を調節することを示した。このように、本論文は、Necdin/MAGE ファミリー蛋白質がニューロンの生死を制御する蛋白質群であること、また、これらの欠損や異常がニューロンの分化異常や脳発達異常を引き起こす可能性があることを示した。よって、本論文は学位の授与に値するものと考えられる。